

Dissertação Académica: Artigo de Revisão
Bibliográfica

Mestrado Integrado em Medicina

**IMPACTO DA DETEÇÃO DAS CÉLULAS TUMORAIS
CIRCULANTES NAS NEOPLASIAS DO TRATO URINÁRIO:
PRÓSTATA E BEXIGA**

Ana Teresa Martins Mendes

Estudante

Aluna do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina

Nº de aluno: 201108693

Endereço eletrónico: anatmmendes@gmail.com

Orientador

Dr. Avelino Fraga

Professor Auxiliar Convidado, Mestre em Oncologia

Médico, Urologista

Afiliação

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto

Rua de Jorge Viterbo Ferreira nº 228, 4050-313 Porto, Portugal

Resumo

Introdução: O aumento consistente da incidência das neoplasias e a sua inerente morbimortalidade constituem um grave problema de Saúde Pública. A metastização é responsável por, aproximadamente, 90% das mortes nesses doentes, daí a relevância da investigação deste processo ainda pouco compreendido e do desenvolvimento de métodos para a deteção das células tumorais circulantes, um possível marcador de invasão.

Objetivos: O objetivo desta dissertação é avaliar o impacto da deteção das células tumorais circulantes no prognóstico das neoplasias da próstata e da bexiga, prevendo o benefício da sua aplicabilidade na prática clínica.

Métodos: Foram selecionados os artigos elaborados em inglês e mais relevantes sobre o tema entre 1998 e 2016. A pesquisa foi iniciada em Novembro de 2015 e terminada em Maio de 2016.

Desenvolvimento: A metastização envolve uma ampla sequência de acontecimentos nomeadamente a inflamação, a hipóxia (inerente à expansão tumoral rápida) e a transição epitélio-mesenquimatosa. A neoplasia da próstata é a neoplasia mais frequente no sexo masculino e a da bexiga é o segundo cancro mais frequentemente diagnosticado no trato urinário (nomeadamente o carcinoma urotelial em 95% dos casos), apresentando uma grande capacidade de metastização à distância.

Conclusões: Tanto na neoplasia da próstata como na da bexiga, a deteção de células tumorais circulantes demonstrou ter utilidade clínica, identificando os doentes com maior taxa de recorrência, de progressão e os que necessitam de terapia mais agressiva, com eventual implicação na sobrevida.

Palavras-chave: células tumorais circulantes; deteção; metastização; próstata; bexiga.

Abstract

Introduction: Consistent increase in neoplasms incidence and their inherent morbidity and mortality is a serious public health problem. Metastasis is responsible for approximately 90% of deaths in these patients, hence the importance of investigating this process still poorly understood and the development of methods for the detection of circulating tumor cells, a marker of the cancer evolution.

Objectives: This work goal is to evaluate the impact of the detection of circulating tumor cells in the prognosis of prostate and bladder cancer, providing the benefit of its applicability in clinical practice.

Methods: English articles were selected also as more relevant ones, between 1998 and 2016. Research was started in November 2015 and ended in May 2016.

Development: Metastasis involves a sequence of events such as inflammation, hypoxia (inherent rapid tumor growth) and epithelial-mesenchymal transition. Prostate cancer is the most frequent in men and bladder is the second most frequently diagnosed in the urinary tract (such as urothelial cell carcinoma in 95% of cases) and has a large capacity of distant metastasis.

Conclusions: Both prostate and bladder cancer have demonstrated that the detection of circulating tumor cells have clinical usefulness, indentifying patients with higher recurrence rate, progression and requiring more aggressive therapy, with possible involvement in survival.

Key words: circulating tumor cells; detection; metastasis; prostate; bladder.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, gostaria de fazer um agradecimento especial ao Dr. Avelino Fraga, o orientador que tornou esta dissertação possível, tanto pela sugestão do tema como pelas críticas construtivas na sua execução e, acima de tudo, pela disponibilidade e dedicação.

Ao Dr. Manuel Castanheira de Oliveira pela ajuda essencial na pesquisa bibliográfica.

Aos meus pais e irmãos que, de forma incondicional, tornaram o meu sonho possível: o sonho de ser médica!

Aos amigos de sempre que me acompanharam e me viram crescer e aos amigos da Faculdade, com quem partilhei todas as vitórias e angústias deste longo percurso.

Por último, ao ICBAS que me proporcionou o melhor conhecimento, junto dos melhores docentes. Foi, durante estes seis anos, a minha segunda casa!

Obrigada a todos os que contribuíram para a minha formação pessoal e profissional!

Índice

Resumo.....	2
Abstract.....	3
Agradecimentos	4
Lista de abreviaturas	6
Objetivos	8
Métodos	8
Desenvolvimento	9
Metastização	9
Células tumorais circulantes.....	13
Neoplasia da próstata.....	15
Neoplasia da bexiga	18
Discussão e conclusão	21
Referências bibliográficas.....	23
Anexos	26

Lista de abreviaturas

CGT- células germinativas tumorais

CK- citoqueratina (*cytokeratin*)

CPECs- células circulantes que expressam PSA (*circulating PSA-expressing cells*)

CRPC - cancro da próstata resistente à castração (*castration-resistant prostate cancer*)

CTC - Células tumorais circulantes

CTM- Agregado celular tumoral (*circulating tumor microemboli*)

EGFR- recetor do fator de crescimento epitelial (*epidermal growth factor receptor*)

MMPs- metaloproteinases da matriz

mRNA- RNA mensageiro

NO- óxido nítrico

PSA- antígeno prostático específico (*prostate specific antigen*)

qRT-PCR- reação em cadeia da polimerase em tempo real (*real time quantitative - polymerase chain reaction*)

RTU- ressecção transuretral

TEM - transição epitélio-mesenquimatosa

TC- tomografia computadorizada

TME- transição mesenquimo-epitelial

Introdução

Com o progressivo envelhecimento da população, verifica-se que as neoplasias constituem a maior causa de morte na atualidade⁽¹⁾, sendo que aproximadamente 90% das mortes, nos pacientes oncológicos, se devem à metastização.⁽²⁾

O processo tumoral engloba múltiplas etapas e é caracterizado pela acumulação progressiva de mutações genéticas condicionadas por fatores ambientais e/ou intrínsecos ao próprio doente (como por exemplo hormonais).⁽³⁾

A invasão metastática pode ocorrer por diversas vias, entre as quais a via linfática e a hematogénea (que constitui a forma mais frequente). O destacamento de células do tumor primário para a corrente sanguínea é denominada transição epitélio-mesenquimatosa (TEM) e dá origem às células tumorais circulantes (CTC). Estas células apresentam uma elevada capacidade de sobrevivência em ambientes adversos, o que lhes permite colonizarem locais distintos ao da sua origem. Existe a hipótese de que as CTC podem ser uma população celular semelhante às células iniciadoras tumorais ou células germinativas tumorais (CGT), que se originam pela desdiferenciação, através da TEM do tumor primário, constituído por tecido diferenciado.⁽²⁾

Pouca atenção tem sido dada às interações entre as CTC e o *microenvironment* da circulação, também conhecido como o terceiro *microenvironment*.⁽⁴⁾

Vários estudos demonstraram que a invasão metastática pode ocorrer precocemente na história natural do tumor, enfatizando a importância do desenvolvimento de meios de diagnóstico com elevada especificidade e sensibilidade para a deteção das CTC na corrente sanguínea. Os principais impactos desta deteção residem na possibilidade de interferir no prognóstico da doença, associado ao diagnóstico precoce de células residuais tumorais potencialmente metastáticas; na avaliação da sensibilidade a fármacos anti-cancerígenos; na personalização da terapia oncológica;⁽²⁾ e até na identificação do tumor primário.⁽¹⁾

O estudo exaustivo das CTC levou ao estabelecimento destas como marcadores de avaliação clínica ⁽¹⁾ ainda que não tenha sido implementada, de forma standardizada.⁽⁵⁾

Objetivos

Esta revisão bibliográfica tem como objetivo estabelecer o impacto da detecção das células tumorais circulantes no prognóstico das neoplasias da próstata e bexiga. À medida que se estabelecem mais correlações entre os níveis destas células em circulação e a avaliação antes, durante e após o tratamento, maior se revela o interesse em estabelecê-las na prática clínica. Assim, o valor destas células tem tido uma importância cada vez maior e o seu impacto pode ser muito grande se a sua identificação precoce nos permitir identificar doentes com maior risco de progressão e metastização, permitindo um maior controlo ou até cura da doença, intervindo mais precocemente nos doentes de risco.

Métodos

Na realização desta revisão bibliográfica foram citados quarenta artigos elaborados em inglês. Destes, selecionei os que saíram entre 2007 e 2016 (artigos originais, revisões bibliográficas e meta-análises) para ler e rever por serem mais recentes e terem maior valor científico.

A pesquisa foi iniciada em Outubro de 2015 e terminada em Maio de 2016.

Numa primeira fase, esta revisão abrange a definição das células tumorais circulantes, a sua implicação na metastização e os mecanismos que propiciam este processo. Seguidamente, são analisados artigos que relacionam a detecção destas células nas neoplasias da próstata e da bexiga.

Desenvolvimento

Metastização

A metastização envolve uma complexa cascata de eventos químicos, moleculares e físicos, dos quais resulta a deposição e proliferação de células tumorais em alvos distantes ao tumor primário. Para que este processo ocorra são necessários 3 *microenvironments* propícios: 1) o local do tumor primário, conhecido como o primeiro ambiente; 2) o tecido alvo de metastização, o segundo ambiente; e 3) a corrente sanguínea, o terceiro ambiente.⁽⁴⁾

A formação de metástases segue, geralmente, esta sequência de acontecimentos: crescimento tumoral primário, angiogénese, destacamento de células tumorais, TEM, motilidade, intravasamento, sobrevivência destas células nos vasos, embolização, possível extravasamento, transição mesenquimo-epitelial (TME) caracterizada pela diminuição do tecido epitelial e aumento do mesenquimatoso ⁽³⁾, formação de micrometástases e crescimento de macrometástases. [figura 1] ⁽²⁾

a) Hipóxia

Na expansão tumoral precoce, as células esgotam rapidamente o oxigénio e nutrientes existentes localmente.⁽³⁾

A hipóxia aumenta as concentrações de HIF (HIF-1alfa e HIF-2beta), um mediador da transcrição dos genes da TEM, bloqueando a *anoikis* (apoptose induzida pela disrupção das junções celulares e das interações célula-matriz) e promovendo a angiogénese. Ocorre, assim, a formação caótica dos vasos, desequilibrando as pressões de oxigenação e originando ciclos de hipóxia e reoxigenação, que aumentam a fração de células com um fenótipo mais agressivo e com capacidade metastática. Este fenómeno é, então, responsável, pela seleção natural dessas células com fenótipo metastático. [figura 2] ⁽²⁾⁽³⁾

As metaloproteinases da matriz (MMPs) constituem um importante fator na angiogénese, no intravasamento e na migração transendotelial (pelo seu efeito nefasto na matriz extracelular).⁽⁶⁾

b) Inflamação

A necrose cursa com a libertação de mediadores inflamatórios como as citocinas e as quimocinas que recrutam diversas células, entre as quais leucócitos e macrófagos. Por sua vez, estas células promovem a angiogénese, disrupção da membrana extracelular, motilidade tumoral e libertação de óxido nítrico (NO), que produz radicais livres com capacidade mutagénica e ação citotóxica.⁽⁷⁾

c) TEM (transição epitélio-mesenquimatosa)

Em condições normais, o tecido epitelial tem uma estrutura rígida e imóvel. Pelo contrário, as células mesenquimatosas (como os fibroblastos e leucócitos) têm uma organização mais relaxada e apresentam mobilidade, o que favorece a sua sobrevivência na circulação, ao contrário das células epiteliais. Será de esperar que os antigénios epiteliais estejam reduzidos nas CTC mais invasivas. A deteção de antigénios epiteliais específicos aquando da pesquisa de CTC pode revelar falsos positivos pela quantificação de células epiteliais não tumorais.⁽²⁾

A TEM é um processo caraterístico da invasão carcinomatosa e da metastização. É responsável por alterações morfogenéticas em embriões e na invasão tumoral, sendo induzida por vários fatores transcricionais, entre os quais o Twist. [figura 2]⁽⁸⁾ Caracteriza-se pela degradação da adesão celular, através da clivagem da matriz extracelular pelas enzimas produzidas neste processo - as MMPs; diminuição da expressão da E-caderina; diminuição do epitélio (como a citoqueratina); e aumento dos marcadores mesenquimatosos (como a vimentina).⁽⁹⁾

Durante este processo, o Twist pode necessitar de ativar genes anti-apoptóticos, de modo a permitir que a conversão epitélio-mesenquimatosa ocorra, evitando a *anoikis*. Pela expressão destes genes, vários tumores possuem uma elevada capacidade metastática e são mais resistentes à anoikis do que as células originárias (*parental cells*).⁽⁸⁾

Uma vez atingido o alvo, os tumores mesenquimatosos circulantes podem necessitar de reverter para o tipo epitelial através da TME, com o objetivo de readquirir a capacidade proliferativa. Esta reversibilidade pode explicar as manifestações fenotípicas associadas aos antigénios específicos epiteliais ou mesenquimatosos.⁽¹⁰⁾

Assim, um estudo fiável não deve utilizar antigénios específicos das células epiteliais nem mesenquimatosas para detetar as CTC.⁽²⁾

d) CTM (*circulating tumor microemboli*)

A importância das “migrações celulares coletivas” foi reconhecida há relativamente pouco tempo. Considera-se que a circulação destes agregados tumorais pode ser uma vantagem para a sua sobrevivência, proliferação e estabelecimento de micrometástases em tecidos distantes. Foram também considerados relevantes os que demonstraram que este grupo de células poderia aumentar a metastização sem extravasamento vascular, promovendo uma maior adesão às paredes dos vasos e aí proceder à proliferação, podendo haver rutura dos vasos e consequentemente formação de micro ou macrometástases.⁽²⁾ Assim, foi aceite que a existência de CTM na corrente sanguínea é um marcador de potencial metastático elevado e, portanto, clinicamente relevante.⁽¹⁰⁾

e) CGT (Células germinativas tumorais)

As células germinativas tumorais, também conhecidas como células iniciadoras tumorais, tem um elevado poder tumorigénico, capacidade de renovação e capacidade de originar várias populações celulares.⁽²⁾

Estudos recentes sugerem que o potencial metastático está intimamente relacionado com o baixo número de CGT nas células tumorais primárias, que podem ser a fonte de ativação da expansão metastática.⁽¹¹⁾

A hipóxia suporta a capacidade de auto-renovação celular e acrescenta o fenótipo característico de células germinativas a populações celulares não germinativas. Este fenómeno estimula a transcrição de determinados fatores (como OCT4, NANOG, c-MYC). A TGF-beta, conhecida pela sua capacidade de induzir a TEM, estimula a proliferação e expande a população de CGT pré-existente.⁽¹²⁾⁽¹³⁾

As CGT são particularmente resistentes à terapêutica, tornando o prognóstico menos favorável. Esta resistência parece resultar da reduzida atividade proliferativa que as protege das terapêuticas com ação nas células preferencialmente em divisão; da expressão de proteínas resistentes a fármacos; e do aumento da expressão de proteínas anti-apoptóticas, como a família da Bcl-2.⁽²⁾

f) Órgão ou tecido alvo

O mecanismo que leva à metastização para um tecido ou órgão não é, ainda, um fenómeno unânime. No entanto, vários estudos demonstram que existem quimiocinas específicas que estimulam a migração das células tumorais pela corrente sanguínea e para determinados órgãos.⁽²⁾

g) Metastização: evento precoce?

Teorias mais convencionais assumiam que a ocorrência da metastização era um evento tardio na história natural das neoplasias. Pesquisas mais recentes demonstraram que a invasão pode ocorrer precocemente e pode ser inicialmente indolente.⁽²⁾

A angiogénese induzida pela tumorigénese pode ocorrer em paralelo com a transição para a fase invasiva e, neste contexto, pode constituir uma forma de disseminação vascular que pode preceder o evento primário tumoral em vários anos. A hipóxia pode, também, contribuir para este processo de metastização precoce (ao invés de ser um fenómeno tardio) pela acumulação sucessiva de mutações.⁽¹⁴⁾

Estudos recentes mostraram que a capacidade de metastização pode ser predestinada pelas mutações adquiridas precocemente na tumorigénese, o que leva a crer que podem existir neoplasias que, num estadio inicial, já indiciam capacidade de metastização. Foi demonstrado,

também, que existe uma assinatura genética das células tumorais do tumor primário compatível com as da colónia tumoral invasiva. Este facto pode ser utilizado para prever, com uma elevada eficácia, se o tumor se vai manter localizado ou se vai metastizar.⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾

Células tumorais circulantes

Aproximadamente 1/40 CTC dão origem a micrometástases e apenas 0,01% proliferam para macrometástases.⁽¹⁶⁾ Esta ineficiência metastática deve-se à suscetibilidade destas células à apoptose, à falha no extravasamento de células solitárias e à falha das micrometástases iniciais para estimular a angiogénese e para ocorrer progressão para tumores macroscópicos em órgãos distantes. Além disso, tanto as CTC solitárias como as micrometástases podem ficar latentes durante anos e julga-se que o sistema imune e a angiogénese possam contribuir para este facto, embora os mecanismos possam ser diferentes consoante o tumor. De facto, qualquer evento que desequilibre a balança entre proliferação e a apoptose pode resultar na progressão ou regressão do tumor.⁽²⁾

A neoplasia da mama é a que abrange, até ao momento, mais estudos sobre as CTC.⁽³⁾

Está já estabelecido que as CTC são marcadores de avaliação clínica e que apresentam uma boa correlação com o prognóstico de diversos cancros. Com o objetivo de permitir fazer o diagnóstico da neoplasia primária (contornando a necessidade de realizar uma biópsia à massa, caso exista), foi recentemente desenvolvida uma técnica de imunofluorescência que identifica essas células no sangue periférico e que permite a identificação correta da origem das mesmas. Quanto mais vastas forem as aplicações das CTC mais se vão tornar cruciais na luta contra o cancro.⁽¹⁾

a) Detecção de CTC

A deteção, quantificação e caracterização molecular das CTC têm um enorme potencial em diversas áreas da oncologia. Torna-se, então, preponderante o desenvolvimento de meios de deteção com uma elevada sensibilidade e especificidade. A elevada sensibilidade é muito importante pelo facto da invasão poder ser um processo precoce, como foi explanado anteriormente e, por isso, estar inerente a um número muito baixo de CTC, podendo sinalizar o profissional de saúde para o desenvolvimento do processo invasivo numa fase precoce. Por outro lado, a especificidade é essencial para a não implementação de terapêuticas desajustadas à situação clínica real, pela deteção de células epiteliais/mesenquimatosas não tumorais.⁽²⁾⁽³⁾

A deteção de CTC é, então, útil para avaliar a capacidade de metastização e formular um prognóstico, em estadios precoces, como para avaliar a evolução da doença, a resposta ao tratamento ou a escolha do mesmo, numa etapa mais avançada. Pode também ser usada para estabelecer diagnósticos, evitando os métodos mais invasivos, como as biópsias.⁽³⁾

No entanto, surgem dificuldades técnicas que colocam em risco a eficácia da deteção destas células: o facto de existir um número relativamente reduzido de CTC na corrente sanguínea e a heterogeneidade biológica inerente.⁽²⁾

Vários métodos já foram desenvolvidos, alguns deles já comercializados [tabela 1] :

i) métodos diretos

- Separação imunomagnética (ex. AdnaTest- *AdnaGen*, Cellsearch- *Veridex*)
- Filtração baseada no tamanho (ex. ISET, ScreenCell)
- Microchip microfluidic capture (ex. CEE microfluids- Biocept)
- Centrifugação por gradiente de densidade
- Dielectroforesis filed flow fractionation
- No enrichment/ ICC analysis

ii) métodos indiretos

- qRT-PCR (ex. CK19 mRNA)
- Ensaio moleculares (ex. Episot) ⁽³⁾

Células encontradas na corrente sanguínea e que possuam características tumorais devem ser analisadas citopatologicamente e posteriormente realizado um exame imunomediado ou molecular.⁽²⁾

Por outro lado, alterações no número das CTC prévias a alterações nas imagens anatómicas podem sugerir que o meio analítico pode ser mais robusto e fiável que a citopatologia.⁽³⁾

Um método citológico standardizado e uniforme iria permitir detetar com elevada sensibilidade e especificidade as CTC/CTM de tumores em diferentes tipos de órgão sólidos e em vários estadios. Ensaio que consigam criar estas condições são expectáveis de obter resultados fiáveis e quem sabe, criar guidelines a ser usadas na rotina diária de vários profissionais de saúde.⁽²⁾

Um estudo foi realizado com o propósito de determinar a eficácia e precisão do CellsSearch; as conclusões foram consistentes com a possibilidade de se utilizar este método de detecção de modo standardizado em múltiplos laboratórios. As CTC são extremamente raras em indivíduos saudáveis ou pacientes não oncológicos, mas presentes em múltiplos carcinomas metastizados.⁽¹⁷⁾ Este método imunomagnético de detecção é já usado correntemente para diversas neoplasias: mama, cólon e próstata.⁽¹⁸⁾

Concluiu-se que na maior parte destes testes o resultado continua a ser uma probabilidade, não havendo certeza de que as células detetadas são tumorais.⁽²⁾

Neoplasia da próstata

A neoplasia da próstata é a principal causa de morte por cancro em homens nos países Ocidentais.⁽¹⁹⁾

Aquando do diagnóstico, cerca de 90% dos cancros da próstata são classificados como localizados. A taxa de recorrência bioquímica (através do PSA- *prostate specific antigen*) após prostatectomia radical é de 20 a 30% e esta recidiva pode ocorrer precocemente ou ao fim de 10 a 15 anos. Este facto sugere que as células tumorais podem persistir num estado de latência antes de migrarem para outros tecidos ou órgãos, sendo o osso o local mais comumente afetado pela invasão do carcinoma da próstata. Existe a hipótese de que a progressão da doença resulte da disseminação das células tumorais primariamente à remoção do tumor primário e que a persistência dessas células após cirurgia determine a recorrência.⁽²⁰⁾

O seguimento dos pacientes com carcinoma da próstata é, ainda, baseado numa avaliação clínica, biológica, radiológica e patológica imperfeita⁽⁵⁾. De facto, os indicadores prognósticos que pretendem prever a recorrência de malignidade (como o PSA, o estadio patológico e o grau de Gleason) são insuficientes.⁽²⁰⁾

O PSA tornou-se o teste de rastreio mais utilizado globalmente. No entanto, a baixa especificidade da sua deteção no soro leva a falsos positivos e negativos que acarretam muita incerteza clínica. Neste sentido, surge um estudo que demonstra a associação na deteção de célula circulantes que expressam PSA (CPECs) no sangue e na medula óssea, como alternativa diagnóstica ao doseamento de PSA no soro, tendo-se observado que a maioria dos pacientes com doença clinicamente localizada continham estas células.⁽²¹⁾

Por outro lado, as variações séricas do PSA também não refletem, com rigor, a atividade tumoral; o seu aumento após tratamento embora seja um indicador fiável de resposta por vezes não se relaciona com a sobrevida nem com a existência ou não de metastização.^{(19) (22)}

Numerosos estudos demonstraram a capacidade de detetar células tumorais em circulação e na medula óssea do carcinoma da próstata, mas ainda não foi demonstrada a sua eficácia. Tal como no cancro da mama, há evidências de que as células tumorais migram precocemente a partir do tumor primário.⁽²⁰⁾ Em aproximadamente 70% dos pacientes submetidos a prostatectomia radical foram identificadas CTC na medula óssea após este procedimento cirúrgico, o que corrobora esta teoria de evasão de células precocemente na doença.⁽²⁰⁾

O *Cellsearch*, um método de deteção direto realizado por separação imunomagnética, foi validado para detetar CTC em 7,5mL de sangue. Em estudos prospetivos multicêntricos (nas neoplasias metastáticas da mama, coloretal e da próstata), a deteção destas células antes e após o início de uma linha terapêutica é sinal de mau prognóstico.⁽²³⁾ Assim, em pacientes com carcinoma da próstata, os que apresentam pelo menos 5 CTC em 7,5mL de sangue têm uma sobrevida significativamente inferior aos que possuem menos que 5 CTC. Este conhecimento também é útil na monitorização da terapia, isto é, um tratamento que reduza para menos de 5 as

CTC, iguala a sobrevida dos pacientes (que inicialmente tinham pior prognóstico) aos de melhor prognóstico (grupo com CTC abaixo de 5).⁽¹⁸⁾

A presença ou ausência de CK nas células foi avaliada por imunocitoquímica no sangue periférico e na medula óssea dos pacientes com carcinoma da próstata localizado. Os resultados demonstraram que a presença de CK nas células circulantes define um grupo de alto risco para o desenvolvimento de metástases.⁽²⁴⁾

Apesar da detecção de CTC no pré-operatório não se correlacionar com os fatores de risco patológicos, a sua persistência após prostatectomia radical foi um fator preditivo de recorrência independente.⁽²⁰⁾

Outro estudo demonstrou que, após 5 anos de follow-up, a detecção de CTC no pré-operatório é um fator de recorrência independente.⁽²⁵⁾

O papel da manipulação cirúrgica na disseminação hematogênea e, consequentemente, na maior taxa de recidiva, é muito controverso. Um estudo prospectivo concluiu que a intervenção cirúrgica é responsável pela disseminação hematogênea de células tumorais mas que este aspecto não se repercute numa maior taxa de recorrência. Concluiu, também, que os fatores intrínsecos do tumor são os principais determinantes da evolução tumoral e, consequentemente, do pior prognóstico.⁽²⁵⁾

A maioria dos doentes com cancro da próstata sucumbem após doença progressiva e refratária ao tratamento hormonal, denominando-se, assim, resistentes à castração.⁽¹⁹⁾ O cancro da próstata resistente à castração (CRPC) é uma doença heterogênea cujo prognóstico é muito variável de doente para doente. A resposta ao tratamento nestes doentes constitui um grande desafio não só na rotina clínica como no desenvolvimento de fármacos anti-tumorais.⁽²²⁾

A capacidade de detetar, isolar e caracterizar as CTC nestes pacientes é agora uma realidade clínica. Foi realizado um estudo neste âmbito que concluiu que os níveis basais das CTC são preditivos da sobrevivência destes doentes. O destacamento das células tumorais para a circulação representa uma característica intrínseca do tumor, não sendo apenas um dado quanto à extensão da doença, constituindo, também, um bom preditor de prognóstico nestes doentes, no que diz respeito à sobrevida, por exemplo.⁽²⁶⁾

Também nestes doentes (com CRPC), foi efetuado um estudo prospectivo com o objetivo de relacionar o nível de CTC no pós tratamento e a sobrevida global. Os resultados foram consistentes com a detecção destas células como o método mais preciso e independente na previsão da sobrevida nestes doentes.⁽¹⁹⁾ Outro estudo, abordou a detecção das CTC antes e após o tratamento e a sua repercussão na sobrevida global destes doentes. Concluiu, então, que esta detecção prevê a sobrevida global e que constitui num fator independente prognóstico na progressão da doença.⁽²²⁾

A análise contínua das CTC pode ser um dado valioso na monitorização da CRPC e pode ser usada como marcador intermediário na sobrevida em estudos clínicos.⁽²²⁾⁽²⁷⁾

A medicina está a evoluir na direção da gestão dos pacientes com carcinoma da próstata de um modo personalizado, com adaptação do tratamento à sua biologia molecular intrínseca. Para já, ainda não existe nenhum método standardizado de deteção das células circulantes mas a sua aplicação irá constituir uma valiosa ferramenta que com estudos genéticos e de farmacogenómica, poderão conduzir a grandes avanços no conhecimento do prognóstico destes doentes e instituição atempada de tratamentos mais eficazes.⁽⁵⁾

Neoplasia da bexiga

O cancro da bexiga é o quinto tipo de cancro mais frequentemente diagnosticado e o segundo (a seguir à neoplasia da próstata) no trato genito-urinário ⁽²⁸⁾, sendo uma importante causa de morbimortalidade. A incidência desta neoplasia está aumentada na Europa, América do Norte e no Norte de África, sendo mais frequente em homens. ⁽²⁹⁾

O Carcinoma urotelial é o tipo histológico mais comum ⁽²⁹⁾ ⁽³⁰⁾, sendo os não uroteliais extremamente raros (menos de 5% de todos os cancros da bexiga primários). Cerca de 95% dos carcinomas uroteliais surgem da bexiga; os outros locais, como a pélvis renal e o ureter, são menos frequentes. ⁽²⁹⁾ Uma característica comum do cancro da bexiga é a sua grande capacidade de metastização à distância (para diferentes órgãos e tecidos). ⁽²⁸⁾ Cerca de 20% das neoplasias classificadas histopatologicamente como pouco invasivas recorrem num prazo de 5 anos. ⁽³¹⁾ O cancro da bexiga demonstrou a capacidade de se evadir à morte celular programada, através da alteração da expressão tanto das proteínas anti como pró-apoptóticas. ⁽³²⁾

O tabaco é o principal fator de risco prevenível para esta neoplasia em ambos os sexos. A história ocupacional também pode constituir um fator de risco, em profissões que propiciem o contacto com a borracha, determinados corantes e têxteis, tintas e químicos utilizados nos cabeleireiros. A dieta rica em fritos e gorduras e a infeção por *schistosoma* são fatores de risco com menor correlação. ⁽²⁸⁾

Os métodos mais usados para estadiamento do carcinoma da bexiga são a imagiologia e os métodos patológicos: o TNM (*tumor, lymph nodes* e *metastases*), cujo objetivo é determinar o grau de disseminação da doença. A avaliação inicial pode ser imprecisa, podendo classificar a doença incorretamente, levando a sobretratamento ou subtratamento. Assim, um estadiamento precoce mais assertivo facilita a estratificação do risco para que as decisões terapêuticas sejam mais adequadas. Os sucessivos estudos sobre a deteção das CTC abrem caminho para uma nova abordagem. ⁽¹⁸⁾⁽²⁹⁾

Foi realizado um estudo prospetivo em pacientes com carcinoma urotelial não metastizado. Os resultados obtidos sugerem que a presença de CTC pode ser um marcador precoce de doença disseminada e que o *Cellsearch* é um método exequível para o efeito. ⁽³¹⁾⁽³³⁾

Também utilizando este método de deteção de CTC, foi realizado um estudo em pacientes com doença invasiva (mas sem invasão da camada muscular). Concluiu-se que a sua deteção permite a identificação de doentes de alto risco para progressão da doença, de doentes de alto risco para recorrência e dos candidatos a terapia adjuvante precocemente. ⁽³⁴⁾

A avaliação da atividade da telomerase é outro método de deteção de CTC, minimamente invasivo e que tem valor na monitorização da progressão da neoplasia da bexiga. ⁽³⁵⁾

As CTC são frequentemente encontradas no carcinoma Urotelial metastizado mas também num reduzido número de pacientes com a neoplasia clinicamente localizada. Estas células foram encontradas em 50% dos carcinomas da bexiga metastizados testados. Estes

achados sugerem que CTC mensuráveis podem ser prognósticas de diminuição da sobrevida em pacientes com doença metastática, embora o *cutt-off* ainda não tenha sido definido. O facto de as CTC terem sido encontradas também em doentes com doença localizada indicia o potencial de risco destes.⁽¹⁸⁾

Outro estudo determinou que as CTC foram encontradas em 40% dos pacientes com tumor metastizado e que um título mais elevado destas células é observado nos que já possuem diversos locais de metastização. Em um terço dos pacientes foram detetadas pelo menos 5 CTC, o que pode ser útil na avaliação precoce da doença e na monitorização da resposta à quimioterapia.⁽³⁶⁾

A deteção de CTC pode, também, confirmar o diagnóstico de neoplasia urotelial e identificar doença avançada ou com risco de progressão. No entanto, devido à reduzida sensibilidade, não deve ser utilizada como método de rastreio.⁽²⁹⁾

Tal como no carcinoma da próstata, a manipulação cirúrgica também foi enunciada como possível causadora da disseminação hematogénea. A resseção transuretral (RTU) constitui a intervenção standard para o diagnóstico do carcinoma da bexiga. É uma intervenção agressiva que pode causar dano e promover a libertação de células tumorais para a corrente sanguínea. Apesar dos resultados de um estudo não permitirem evidenciar de forma clara esse aumento da libertação de CTC no sangue, indicaram que a medição do EGFR mRNA (epidermal growth factor receptor), ou seja, análise do mRNA específico do epitélio, através do qRT-PCR, permite a identificação das CTC no sangue periférico, podendo, assim, ser útil na prática clínica.⁽³⁰⁾

A cistectomia é o procedimento cirúrgico standard aquando da invasão muscular numa neoplasia da bexiga, tendo uma sobrevida de 60% aos 5 anos. O aparecimento de metástases à distância são a principal causa de recorrência detetada nomeadamente com tomografia computadorizada (TC), que permitiu uma deteção de recorrência mais preciso. O resultado de um estudo retrospectivo demonstrou que o único fator independente de recorrência local, em pacientes que realizaram uma cistectomia por doença invasiva, era a existência concomitante de um carcinoma de células escamosas.⁽³⁷⁾

Um quarto dos pacientes que recorreram a cistectomia radical por doença não invasiva apresentavam CTC no sangue periférico no pré operatório, o que indicia a possibilidade de recorrência precoce e de mortalidade subjacente. Assim, a presença de CTC é indicação para terapia multimodal e mais agressiva e precoce. A caracterização molecular destas células poderá servir de base ao desenvolvimento de terapêuticas dirigidas a cada paciente e, portanto, às características moleculares de cada neoplasia.⁽³⁸⁾

Noutro estudo, a presença de CTC no pré operatório não foi suficiente para indicar doença extra-vesical ou de gânglios positivos à distância.⁽³⁹⁾

Foi ainda demonstrado que a manipulação cirúrgica não foi responsável pelo destacamento de células tumorais para a corrente sanguínea e, por isso, não constituiu um fator causador da metastização.⁽⁴⁰⁾

Discussão e conclusão

As neoplasias constituem um problema grave e emergente de Saúde Pública em todo o mundo. Julga-se que o seu aumento está a acompanhar o envelhecimento global da população. 90% das mortes nestes pacientes devem-se à metastização, daí a extrema importância no desenvolvimento de técnicas de deteção precoce de doença agressiva. O doseamento das CTC (intimamente relacionadas com este processo invasivo) pode vir a ser aplicável na prática clínica, já que os meios usados rotineiramente para prever o grau de invasão ou recorrência não se têm demonstrado eficazes.

Em ambas as neoplasias (próstata e bexiga) a metastização pode ocorrer precocemente na evolução da doença, sendo essencial detetar doentes de risco.

Para o carcinoma da próstata foi testado um *cutt-off* de 5 CTC (avaliadas pelo método Cellsearch, em 7,5mL de sangue) a partir do qual os pacientes passam a ter uma sobrevida significativamente inferior. Este nível foi também utilizado para avaliar a resposta à terapêutica, sendo que os pacientes que apresentavam mais que 5 CTC previamente ao tratamento e que baixavam desse valor após o mesmo, igualavam a sua sobrevida aos doentes inseridos no prognóstico mais favorável inicialmente (abaixo das 5 CTC). Os níveis basais de CTC são preditivos de sobrevivência. A análise contínua dos níveis das CTC pode ser usada na monitorização da CRPC como marcador intermediário na sobrevida em estudos clínicos.

A presença de CK também definiu grupos de alto risco para o desenvolvimento de metástases. A deteção de CTC no pré-operatório constituiu um fator preditor de recorrência independente quando estas persistiam após prostatectomia. A deteção destas células também constituiu um fator preditor de recorrência após um período de 5 anos de seguimento.

A manipulação cirúrgica, embora fosse causa de destacamento celular tumoral, não se repercutiu numa maior taxa de recorrência, sendo que esta se relacionou principalmente com as características intrínsecas do tumor.

Na neoplasia da bexiga, a deteção de CTC permite a identificação precoce de doentes de alto risco para progressão da doença, doentes de alto risco para recorrência e dos candidatos a terapia adjuvante. Ao contrário da próstata, não foi definido ainda nenhum *cutt-off*.

As CTC também podem ser encontradas em doentes com doença clinicamente localizada, indicando que esses podem apresentar maior risco de evolução. A deteção em doentes já metastizados indica diminuição da sua sobrevida.

Quanto à manipulação cirúrgica, e ao contrário da neoplasia da próstata, os estudos não comprovaram um maior destacamento de células tumorais e, portanto, não constituiu um fator causador de metastização.

O único fator independente de recorrência local identificado em pacientes que realizaram cistectomia por doença invasiva, foi a existência concomitante de um carcinoma de células escamosas.

Em resumo, tanto na neoplasia da próstata como na da bexiga, a detecção de CTC demonstrou ter implicação na sobrevida (identificando os doentes com maior taxa de recorrência, de progressão e os que necessitam de terapia mais agressiva). A detecção de CTC pode, também, indicar o tumor primário e identificar a biologia molecular intrínseca do mesmo, que permitirá uma gestão personalizada dos pacientes. No cancro da próstata foi sugerido o *cutt-off* de 5 CTC (em 7,5mL de sangue) como preditor de alto risco e, conseqüentemente pior sobrevida. Este nível foi também utilizado na monitorização terapêutica. No cancro da bexiga não foi estabelecido nenhum nível de CTC. Na neoplasia da próstata e da bexiga, a manipulação cirúrgica pode ter influência no destacamento de células tumorais, mas a capacidade de metastização foi relacionada apenas com as características intrínsecas do tumor, pelo que a sua pesquisa e aplicação clínica terá muito interesse!

Referências bibliográficas

1. Lu S, Tsai W, Chang Y, Chou T, Pang S, Lin H, et al. Identifying cancer origin using circulating tumor cells. 2016;4047(April).
2. Paterlini-Brechot P, Benali NL. Circulating tumor cells (CTC) detection: Clinical impact and future directions. *Cancer Lett.* 2007;253(2):180–204.
3. Liberko M, Kolostova K, Bobek V. Essentials of circulating tumor cells for clinical research and practice. *Crit Rev Oncol Hematol* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2013;88(2):338–56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.critrevonc.2013.05.002>
4. Loberg RD, Fridman Y, Pienta B a., Keller ET, McCauley LK, Taichman RS, et al. Detection and Isolation of Circulating Tumor Cells in Urologic Cancers: A Review. *Neoplasia.* 2004;6(4):302–9.
5. Vlaeminck-guillem V. When Prostate Cancer Circulates in the Bloodstream. 2015;428–74.
6. Kuo Y, Su C, Liu C, Chen T, Chen C, Wang H. Transforming growth factor- b induces CD44 cleavage that promotes migration of MDA-MB-435s cells through the up-regulation of membrane type 1-matrix metalloproteinase. 2009;2576:2568–76.
7. Condeelis J, Pollard JW. Minireview Macrophages: Obligate Partners for Tumor Cell Migration, Invasion, and Metastasis. 2006;263–6.
8. Yang J, Mani SA, Weinberg RA. Exploring a New Twist on Tumor Metastasis. 2006;(9):4549–53.
9. Willipinski-stapelfeldt B, Riethdorf S, Woelfle U, Rau T, Sauter G, Heukeshoven J, et al. Human Cancer Biology Changes in Cytoskeletal Protein Composition Indicative of an Epithelial-Mesenchymal Transition in Human Micrometastatic and Primary Breast Carcinoma Cells. 2005;11(22):8006–15.
10. Christiansen JJ, Rajasekaran AK. Reassessing Epithelial to Mesenchymal Transition as a Prerequisite for Carcinoma Invasion and Metastasis. 2006;(17):8319–27.
11. Mani SA, Guo W, Liao M, Eaton EN, Ayyanan A, Zhou AY, et al. The Epithelial-Mesenchymal Transition Generates Cells with Properties of Stem Cells. 2008;704–15.
12. Evans AJ, Russell RC, Roche O, Burry TN, Fish JE, Chow VWK, et al. VHL Promotes E2 Box-Dependent E-Cadherin Transcription by HIF-Mediated Regulation of SIP1 and Snail □ †. 2007;27(1):157–69.
13. Semba S, Yokozaki H. Biological significance of tumor budding at the invasive front of human colorectal carcinoma cells. 2012;201–10.
14. Gray JW. Evidence emerges for early metastasis and parallel evolution of primary and metastatic tumors. 2003;(July).
15. Ramaswamy S, Ross KN, Lander ES, Golub TR. A molecular signature of metastasis in primary solid tumors. 2003;33(january):49–54.

16. Luzzi KJ, Macdonald IC, Schmidt EE, Kerkvliet N, Morris VL, Chambers AF, et al. Multistep Nature of Metastatic Inefficiency Dormancy of Solitary Cells after Successful Extravasation and Limited Survival of Early Micrometastases. *Am J Pathol* [Internet]. American Society for Investigative Pathology; 1998;153(3):865–73. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65628-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65628-3)
17. Allard WJ, Matera J, Miller MC, Repollet M, Connelly MC, Rao C, et al. Tumor Cells Circulate in the Peripheral Blood of All Major Carcinomas but not in Healthy Subjects or Patients With Nonmalignant Diseases Tumor Cells Circulate in the Peripheral Blood of All Major Carcinomas but not in Healthy Subjects or Patients With Non. 2004;10:6897–904.
18. Cells T, Flaig TW, Wilson S, Bokhoven A Van, Varella-garcia M, Wolfe P, et al. Detection of Circulating Tumor Cells in Metastatic and Clinically Localized Urothelial Carcinoma. URL [Internet]. Elsevier Inc.; 2011;78(4):863–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.urology.2011.05.045>
19. De Bono JS, Scher HI, Montgomery RB, Parker C, Miller MC, Tissing H, et al. Circulating tumor cells predict survival benefit from treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 2008;14(19):6302–9.
20. Morgan TM, Lange PH, Porter MP, Lin DW, Ellis WJ, Gallaher IS, et al. Disseminated tumor cells in prostate cancer patients after radical prostatectomy and without evidence of disease predicts biochemical recurrence. *Clin Cancer Res*. 2009;15(2):677–83.
21. Gao C-L, Rawal SK, Sun L, Ali A, Connelly RR, Bañez LL, et al. Diagnostic potential of prostate-specific antigen expressing epithelial cells in blood of prostate cancer patients. *Clin Cancer Res*. 2003;9(7):2545–50.
22. Olmos D, Arkenau HT, Ang JE, Ledaki I, Attard G, Carden CP, et al. Circulating tumour cell (CTC) counts as intermediate end points in castration-resistant prostate cancer (CRPC): A single-centre experience. *Ann Oncol*. 2009;20(1):27–33.
23. Miller MC, Doyle G V, Terstappen LWMM. Significance of Circulating Tumor Cells Detected by the CellSearch System in Patients with Metastatic Breast Colorectal and Prostate Cancer. *J Oncol*. 2010;2010:617421.
24. Lilleby W, Nesland JM, Fosså SD, Torlakovic G, Waehre H, Kvalheim G. The prognostic impact of cytokeratin-positive cells in bone marrow of patients with localized prostate cancer. *Int J Cancer*. 2003;103(1):91–6.
25. Eschwège P, Moutereau S, Droupy S, Douard R, Gala J-L, Benoit G, et al. Prognostic value of prostate circulating cells detection in prostate cancer patients: a prospective study. *Br J Cancer*. 2009;100(4):608–10.
26. Danila DC, Heller G, Gignac G a., Gonzalez-Espinoza R, Anand A, Tanaka E, et al. Circulating tumor cell number and prognosis in progressive castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 2007;13(23):7053–8.
27. Scher HI, Jia X, de Bono JS, Fleisher M, Pienta KJ, Raghavan D, et al. Circulating tumour cells as prognostic markers in progressive, castration-resistant prostate cancer: a reanalysis of IMMC38 trial data. *Lancet Oncol* [Internet]. Elsevier Ltd; 2009;10(3):233–9.

Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(08\)70340-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(08)70340-1)

28. Nezos A, Pissimisis N, Lembessis P, Sourla A, Dimopoulos P, Dimopoulos T, et al. Detection of circulating tumor cells in bladder cancer patients. *Cancer Treat Rev* [Internet]. Elsevier Ltd; 2009;35(3):272–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ctrv.2008.11.003>
29. Msaouel P, Koutsilieris M. Diagnostic value of circulating tumor cell detection in bladder and urothelial cancer: systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer* [Internet]. BioMed Central Ltd; 2011;11(1):336. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/11/336>
30. Antoniewicz AA, Paziewska A, Mikula M. Lack of evidence for increased level of circulating urothelial cells in the peripheral blood after transurethral resection of bladder tumors. 2012;761–7.
31. Rink M, Chun FKH, Minner S, Friedrich M, Mauermann O, Heinzer H, et al. peripheral blood of patients with advanced non-metastatic bladder cancer. 2010;1668–75.
32. Gradilone A, Petracca A, Nicolazzo C, Gianni W, Cortesi E, Naso G, et al. circulating tumour cells in T1G3 bladder cancer. 2009;
33. Naoe M, Ogawa Y, Morita J, Omori K, Takeshita K, Shichijyo T, et al. Detection of Circulating Urothelial Cancer Cells in the Blood Using the CellSearch System. 2007;(February).
34. Gazzaniga P, Gradilone A, Berardinis E. Prognostic value of circulating tumor cells in nonmuscle invasive bladder cancer: a CellSearch analysis. 2012;
35. Soria J, Morat LUC, Durdax C, Housset M, Cortez A, Blaise R, et al. THE MOLECULAR DETECTION OF CIRCULATING TUMOR CELLS IN BLADDER CANCER USING TELOMERASE ACTIVITY. 2002;167(January):352–6.
36. Gallagher DJ, Milowsky MI, Ishill N, Trout A, Boyle MG, Riches J, et al. Detection of circulating tumor cells in patients with urothelial cancer. 2009;(October 2008):305–8.
37. Honma I, Masumori N. LOCAL RECURRENCE AFTER RADICAL CYSTECTOMY FOR INVASIVE BLADDER CANCER: AN ANALYSIS OF. 2004;0–4.
38. Rink M, Chun FK, Dahlem R, Soave A, Minner S, Hansen J, et al. Prognostic Role and HER2 Expression of Circulating Tumor Cells in Peripheral Blood of Patients Prior to Radical Cystectomy: A Prospective Study. 2012;61:810–7.
39. Guzzo TJ, Mcneil BK, Bivalacqua TJ, Ph D, Elliott DJ, Sokoll LJ, et al. The presence of circulating tumor cells does not predict extravesical disease in bladder cancer patients prior to radical cystectomy □. *URO* [Internet]. Elsevier Inc.; 2012;30(1):44–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.urolonc.2009.10.008>
40. Karl A, Tritschler S, Hofmann S, Stief CG, Schindlbeck C. P ERIOPERATIVE S EARCH FOR C IRCULATING T UMOR C ELLS IN P ATIENTS. 2009;487–90.

Anexos

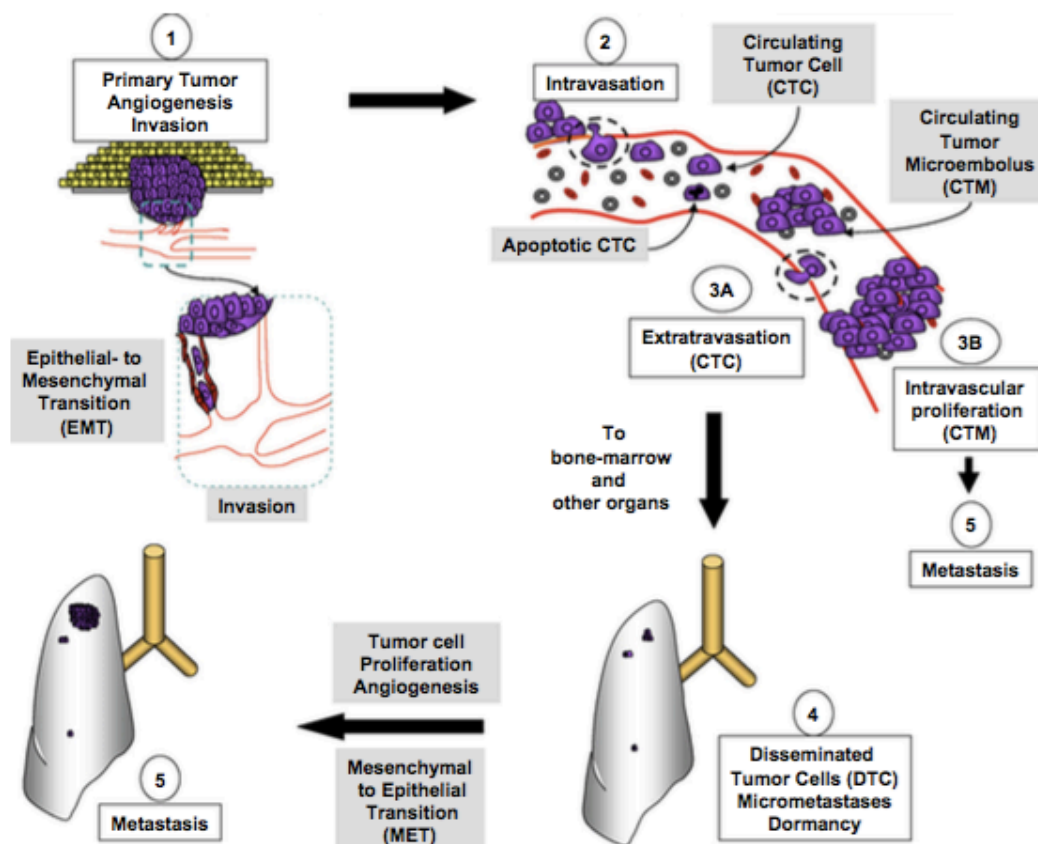


Fig. 1. Main steps leading to development of metastases. (1) Growing tumor cells outstrip oxygen supply and activate angiogenesis. Downregulation of E-cadherin leads to reduced cell adhesion and early invasiveness of tumor cells resistant to apoptosis. Invading tumor cells undergo the phenotype switch "epithelial to mesenchymal transition (EMT)": they progressively lose epithelial antigens, acquire mesenchymal antigens, and motile propensities (like fibroblasts). (2) After entering blood vessels (intravasation), circulating tumor cells (CTC) undergo apoptosis or circulate as isolated CTC. They are out of cell cycle and do not proliferate. (3A) CTC extravasate to distant organs. (4) After extravasation, CTC remain as dormant solitary cells (disseminated tumor cells, DTC), or undergo limited proliferation (Micrometastases). (5) Unrestrained CTC proliferation gives rise to metastases, via phenotype reversion MET (mesenchymal to epithelial transition) and angiogenesis. (3B–5) Circulating tumor microemboli (CTM) represent "collective migration" of tumor cells. They have a high metastatic potential as they are resistant to apoptosis and keep proliferative capacities. CTCM cannot extravasate, but arrest in capillaries and proliferate, rupturing the capillary walls and giving rise to metastases. Thus, CTCM may mediate a shortcut to metastases.

Figura 1. Processo de Metastização (retirado de: Paterlini-Brechot P, Benali NL. Circulating tumor cells (CTC) detection: Clinical impact and future

directions. Cancer Lett. 2007;253(2):180–204)

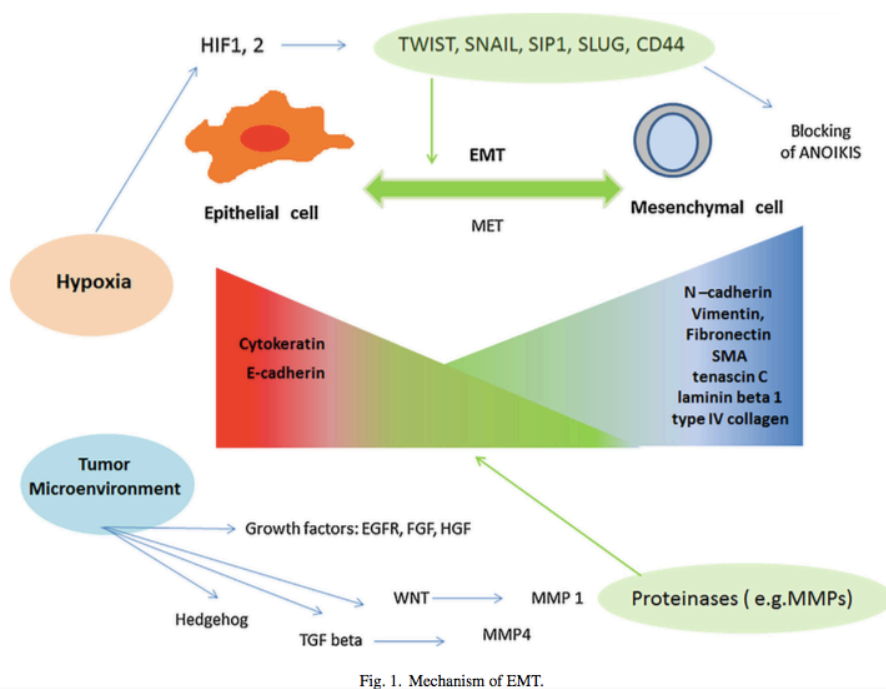


Figura 2. Mecanismo da TEM (retirado de: Liberko M, Kolostova K, Bobek V. Essentials of circulating tumor cells for clinical research and practice. Crit Rev Oncol Hematol [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2013;88(2):338–56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.critrevonc.2013.05.002>)

Tabela 1. Métodos de detecção das CTC (retirado de: Liberko M, Kolostova K, Bobek V. Essentials of circulating tumor cells for clinical research and practice. Crit Rev Oncol Hematol [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2013;88(2):338–56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.critrevonc.2013.05.002>)

342

M. Liberko et al. / Critical Reviews in Oncology/Hematology 88 (2013) 338–356

Table 1
CTC detection methods.

Principles	CELL viability	Specificity/purity	Sensitivity	EPCAM dependent
Direct CTC detection				
1. Immunomagnetic separation AdnaTest (AdnaGen), CellSearch (Veridex), MACS (Miltenyi Biotec) MagSweeper (SSM)	Yes but limited	Good	Low	Yes
2. Size-based filtration ISET (RareCells), ScreenCell, CTC Chip (On-Q-ity)	Yes	Low	Low	No
3. Microchip microfluidic capture CEE Microfluids (Biocept), Herringbone-Chip (J&J), ClearCell (Clearbridge BioMedics), Geometrically Enhanced Differential Immunocapture (GEDI)	Limited	Good	Good	Yes/no
4. Density gradient centrifugation Ficoll-Hypaque, OncoQuick (Greiner Bio One)	Yes	Low	Low	No
5. Dielectrophoresis filed flow fractionation DEP-FFF (ApoCell, Silicon Biosystems)	Yes	Good	Good	No
6. No enrichment/ICC analysis ICC-image analysis HD-CTC assay (Epic Sciences) ab-coated nanodetector in vivo (GILUPI)	No	Low	Good	No
Non-direct CTC detection				
1. RT-qPCR analysis CK19 mRNA-detection	No	Good	Good	No
2. Protein assays Epispot	Yes	Good	Good	No